

## KUTATÁSI JELENTÉS

### Ritkaföldfém(III)–poliaza-polikarboxilát és -polifoszfónát komplexek helyettesítési reakcióinak kinetikája és mechanizmusa A komplexek *in vivo* disszociációja mértékének becslése a kinetikai adatok alapján

T 038364 OTKA pályázat  
2002–2005

A pályázat keretében és annak támogatásával végzett munka döntően a ritkaföldfém(III)-komplexek vizsgálatával kapcsolatos, de főként az egyensúlyi vizsgálatok során több más, elsősorban élettani szempontból érdekes fémion (pl.  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) komplexét is vizsgáltuk.

A munkatervünkben szereplő témák nagyobb részének vizsgálatát befejeztük, de a 2005-re tervezett kettős cserereakciók, illetve a transzferrin cserereakcióinak részletesebb vizsgálatát 2006-ban kezdtük meg. Ennek az az oka, hogy a makrociklusos acetát-glicin származékokkal – amelyek mint ún. PARACHEST kontrasztanyagok a legutóbbi időben érdekessé váltak – a tervezettnél többet foglalkoztunk. Ugyancsak részletesebben vizsgáltuk a láncközi foszfinátcsoportot tartalmazó aminopolikarbonsavakat, amelyeknek a szintézise igen munkaigényes volt.

A munkában a következők vettek részt: Dr. Brücher Ernő egyetemi tanár (témavezető), Dr. Király Róbert docens, Dr. Lázár István docens, Dr. Bányai István docens, Zékány László műszaki ügyintéző, Jászberényi Zoltán, Baranyai Zsolt, Kálmán Ferenc, Tircsó Gyula, Csajbók Éva, Iványi Tímea Ph.D. hallgatók, Simon Angéla, Kis Anita, Pál Róbert IV-V. éves vegyész hallgatók, Rózsa Béla, Vanka Judit vegyésztechnikusok.

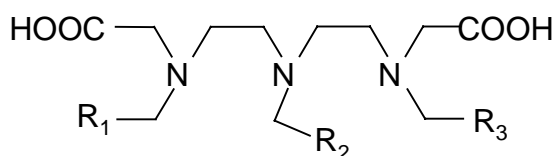
#### 1) DTPA-amid-származékok komplexképző sajátságai

A pályázatban tervezett munka során az 1. ábrán feltüntetett 5–12 ligandum egyensúlyi sajátságait és a 2–12 ligandum  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexei „kinetikai stabilitását” az  $\text{Eu}^{3+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal lefolyó csere sebességét vizsgálva tanulmányoztuk. A szabadgyököket tartalmazó 10–12 ligandum  $\text{Cu}^{2+}$ -komplexeit nem vizsgáltuk, mivel a szabadgyökök a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionnal redoxireakcióba lépnek. A szabadgyököket tartalmazó ligandumokat *Hideg Kálmán* professzor munkatársaival a Pécsi Egyetemen állította elő, míg az 5–8 ligandumot a pécsi kollégák segítségével mi preparáltuk. A 2–4 ligandumot a *Schering A. G.* bocsátotta rendelkezésünkre, míg a 9. ligandumot a Prágai Egyetemen állították elő, és egy prágai Ph.D. hallgató debreceni tanulmányútja során közösen vizsgáltuk.

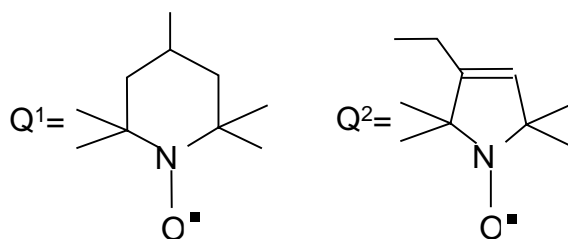
A DTPA-amid-származék ligandumok protonálódási állandói az amidcsoportok számának növekedésével fokozatosan csökkennek, ami a komplex stabilitási állandók csökkenését is eredményezi. Ugyanakkor a  $-\text{CO}-\text{NH}_2$  amid hidrogének alkilcsoportokra történő cseréjével párhuzamosan a protonálódási állandók és a komplexek stabilitási állandói is nőnek.

Megállapítottuk, hogy a DTPA-bisz(amid)-származékok ( $\text{H}_3\text{L}$ )  $\text{GdL}$ ,  $\text{CuL}$ ,  $\text{CuHL}$ ,  $\text{CuH}_2\text{L}$ ,  $\text{Cu}_2\text{L}$ ,  $\text{ZnL}$ ,  $\text{ZnHL}$ ,  $\text{ZnH}_2\text{L}$  és  $\text{Zn}_2\text{L}$  összetételű komplexeket képeznek. A kétmagvú  $\text{M}_2\text{L}$ -komplexek képződését korábban nem ismerték. A kétmagvú  $\text{Zn}_2\text{L}$ - és  $\text{Cu}_2\text{L}$ -komplexek képződése miatt a ligandumok Gd-ra vonatkozó szelektivitása kisebb mint azt korábban, csupán az  $\text{ML}$ -komplexek stabilitása alapján számolták [1–3].

A  $\text{Gd}^{3+}$ –DTPA-bisz(amid)-komplexeknek a klinikai alkalmazás szempontjából fontos kinetikai stabilitását az  $\text{Eu}^{3+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal lefolyó fémioncsere reakciók vizsgálata alapján hasonlítottuk össze (a szabadgyök-származékok és a  $\text{Cu}^{2+}$  reakcióját nem vizsgáltuk).



- |     |                                 |                               |                                      |
|-----|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 1.  | $R_1 = R_2 = R_3 = \text{COOH}$ |                               | $\text{H}_5\text{DTPA}$              |
| 2.  | $R_1 = R_3 = \text{COOH};$      | $R_2 = \text{CONHMe}$         | $\text{H}_4\text{DTPA-}N'\text{-MA}$ |
| 3.  | $R_1 = R_2 = \text{COOH};$      | $R_3 = \text{CONHMe}$         | $\text{H}_4\text{DTPA-}N\text{-MA}$  |
| 4.  | $R_1 = R_3 = \text{CONHMe};$    | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-BMA}$          |
| 5.  | $R_1 = R_3 = \text{CONH}_2;$    | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-BA}$           |
| 6.  | $R_1 = R_3 = \text{CONHBu};$    | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-BBuA}$         |
| 7.  | $R_1 = R_3 = \text{CONBu}_2;$   | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-BBBuA}$        |
| 8.  | $R_1 = R_3 = \text{CONBu}_2;$   | $R_2 = \text{CONHMe}$         | $\text{H}_3\text{DTPA-TrA}$          |
| 9.  | $R_1 = R_3 = \text{COOH};$      | $R_2 = \text{PO}_3\text{H}_2$ | $\text{H}_6\text{DTPA-}N'\text{-MP}$ |
| 10. | $R_1 = R_3 = \text{CONHQ}^1;$   | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-MQ}^1$         |
| 11. | $R_1 = R_3 = \text{CONHQ}^2;$   | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-MQ}^2$         |
| 12. | $R_1 = R_3 = \text{CONHQ}_2^2;$ | $R_2 = \text{COOH}$           | $\text{H}_3\text{DTPA-BQ}^2$         |



**1. ábra** A vizsgálataink során használt DTPA-származék ligandumok

A  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek és az  $\text{Eu}^{3+}$ -ionok közötti csere a komplex protonkatalizált disszociációját követően megy végbe. A  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal történő csere a  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionoknak a GdL-komplexen történő közvetlen támadásával is végbemegy egy kétmagvú, GdLM köztitermék képződésén keresztül. A  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok kinetikai aktivitása nagyobb, így a kicserélődési reakciók sebessége a  $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Eu}^{3+}$  sorrendben csökken.

Az amidcsoportban a butil vagy szabadgyök szubsztituensek száma jelentős hatást gyakorol a kicserélődési reakciók sebességére. Mind a GdL-komplexek protonkatalizált disszociációjának sebessége, mind a  $\text{Zn}^{2+}$ - és  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok közvetlen támadásának sebessége a szubsztituensek számának növekedésével jelentősen csökken. A  $-\text{CO}(\text{NR}_2)$ -csoportot tartalmazó GdL-komplexek kinetikai stabilitása nagyobb mint a klinikai gyakorlatban MRI kontrasztanyagként használt  $\text{Gd}(\text{DTPA})$ - és  $\text{Gd}(\text{DTPA-BMA})$ -komplexeké.

A  $\text{Gd}(\text{DTPA})$ -bisz(amid)-származékok jelentős kinetikai stabilitása feltehetően annak a következménye, hogy a karboxilátcsoporttal szemben az amid oxigén töltés nélküli, ezért gyakorlatilag nem protonálódik (a komplex protonálódása pH-potenciometriásan nem

mutatható ki) és a támadó  $\text{Cu}^{2+}$ - vagy  $\text{Zn}^{2+}$ -ionokkal sem lép olyan mértékben kölcsönhatásba, mint a karboxilát oxigén [1–6].

Előállítottuk a három amidcsoportot tartalmazó DTPA-trisz(amid)-származékot, melyben a két terminális nitrogénhez  $-\text{CH}_2-\text{CO}(\text{NH})\text{Bu}-$  a középső nitrogénhez  $-\text{CH}_2-\text{CO}(\text{NH})\text{Me}-$ csoport koordinálódik. A képződő  $\text{Gd}^{3+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -komplexek stabilitási állandói kisebbek mint a DTPA-bisz(amid)-származékoké, ugyanakkor a  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek kinetikai stabilitása viszonylag nagy, közelítőleg egyezik a  $-\text{CO}(\text{NR}_2)-$ csoportot tartalmazó bisz(amid)okéval. Ez a tapasztalatunk ugyancsak arra hívja fel a figyelmet, hogy az amidcsoport reaktivitása kicsi és aminopolikarboxilát ligandumokban kedvező karboxilát-amid arány esetében termodinamikailag nem túlságosan stabilis, de kinetikailag inert komplexek nyerhetők.

A  $\text{Gd}^{3+}$ -komplex belső koordinációs szférájában az egyéb DTPA-származékok komplexeihez hasonlóan egy vízmolekula koordinálódik. A  $\text{GdL}(\text{H}_2\text{O})^+$ -komplexben a vízmolekula cseresebességét  $^{17}\text{O}$ -NMR-spektroszkópiás módszerrel a Lausanne-i Műszaki Egyetemen A. E. Merbach professzorral együttműködve vizsgáltuk. Az egy pozitív töltésű komplexben a vízcsere sebessége valamivel kisebb a töltés nélküli  $\text{Gd}(\text{DTPA})$ -bisz(amid)-származékokénál, vagyis, a komplex pozitív töltése a vízcsere sebesség értékében csak kismértékű csökkenést eredményez [3].

A  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek protonkatalizált,  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -ionok hatására végbemenő disszociációja sebességi állandói ismeretében, felhasználva a komplexek szervezetből történő kiürülésének sebességére az irodalomból ismert adatokat, ki tudjuk számítani a  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek *in vivo* disszociációjából származó és a szervezetben maradó  $\text{Gd}^{3+}$  mennyiségét. A számítás során a komplex disszociációját és kiürülését párhuzamosan lefolyó, elsőrendű folyamatnak tekintjük. Mivel a  $\text{Gd}^{3+}$ -aq-ion toxicitása ismert, modellünk alkalmas lehet a  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek toxicitásának becslésére csupán *in vitro* kísérletekkel nyert sebességi állandók felhasználásával, így az MRI kontrasztanyagként használt  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek vizsgálatokor szükséges állatkísérletek számának esetleges csökkentésére (a számításra alkalmas modellt a *Chem. Eur. J.* (2000) 6, 719 cikkben ismertettük.) számításaink azt mutatják, hogy fiziológiás feltételek mellett ( $\text{pH} = 7,4$ , a szabad  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Zn}^{2+}$ -koncentráció  $1 \cdot 10^{-6}$  M és  $1 \cdot 10^{-5}$  M) a  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexek disszociációjában a protonkatalizált út hozzájárulása elhanyagolható, míg a  $\text{Cu}^{2+}$  és  $\text{Zn}^{2+}$  közvetlen támadásával lefolyó csere közelítőleg azonos mértékben járul hozzá a  $\text{Gd}^{3+}$  kiszorításához. A  $\text{Gd}^{3+}$  disszociáció számított mértéke összevethető az állatkísérletekből ismert eredményekkel.

A  $\text{Ln}^{3+}$ -komplexek disszociációjának mechanizmusáról  $^1\text{H}$  NMR vizsgálatokkal nyertünk információt. A ligandum acetát metilén-csoportjai AB multiplett jelet adnak, ami a  $\text{Ln}^{3+}-\text{N}$  kötés viszonylag hosszú élettartamát jelzi. Az AB multiplett jel alakját a  $\text{La}(\text{DTPA}-\text{N}'-\text{MA})^-$  esetében a  $\text{pH}$  2,5–4 tartományban vizsgálva információt kaptunk az iminodiacetát-csoportok dekoordinációjának frekvenciájáról (a metilén protonok cseréje csak szabad iminodiacetát-csoport esetében lehetséges). Az iminodiacetát-csoport szabaddá válásának gyakorisága legalább 100-szor nagyobb a komplex disszociációja sebességénél, ami mutatja, hogy a disszociáció feltétele további kötések, valószínűleg a ligandum középső N-atomja, koordinációjának megszűnése. A szabaddá vált iminodiacetát-csoport viszonylag gyorsan újra koordinálódik, így a disszociáció sebességmeghatározó lépése a középső N-atom  $\text{La}^{3+}-\text{N}$  kötésének felszakadása [4].

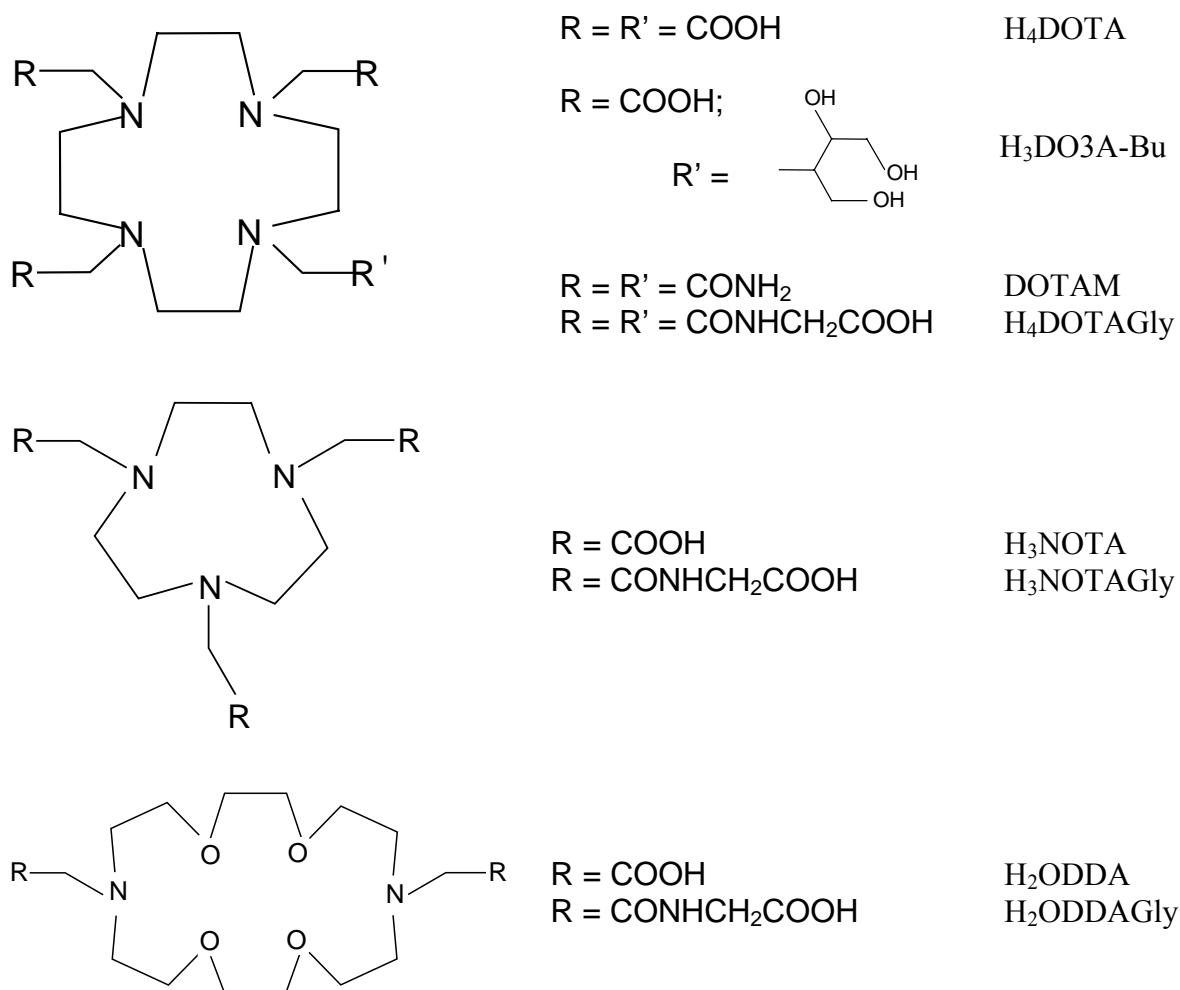
A DTPA és amidszármazékai N-atomjai koordinációjuk következtében királissá válnak és a háromszorosan laponcentrált trigonális prizma szerkezet alapján 4 enantiomer pár megjelenése várható. Az izomerek arányát a DTPA-amid származékok esetében nem ismerték. Az  $\text{Y}(\text{DTPA}-\text{BA})$ -komplex  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumai részletes vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a négy diasztereomer azonos mennyiségben fordul elő [2].

A DTPA-amid-származékok  $\text{Gd}^{3+}$ -komplexei relaxivitásának (az 1 mM-os  $\text{Gd}^{3+}$ -komplex oldatában a víz protonok relaxációsebessége) hőmérsékletfüggése jelzi a belső szférában koordinált vízmolekula viszonylag lassú cseréjét. A  $\text{Gd}(\text{DTPA-TrA})^+$  esetében a pH 4–10 tartományban a relaxitás jelentékenyen változik a pH értékével, ami az *in vivo* pH mérésre alkalmas kontrasztanyagok fejlesztése szempontjából lehet érdekes [3].

A DTPA középső karboxilcsoportja helyett foszfonátcsoportot tartalmazó ligandum a DTPA-*N'*-BP a DTPA-val összemérhető, vagy kicsivel nagyobb stabilitású komplexeket képez az átmenetifém- és  $\text{Ln}^{3+}$ -ionokkal. Ugyanakkor a  $\text{Gd}(\text{DTPA-}N'\text{-BP})^{3-}$ -komplex  $\text{Cu}^{2+}$ - és  $\text{Eu}^{3+}$ -ionokkal lefolyó cserereakciói sebessége lényegesen, 2–3 nagyságrenddel nagyobb a  $\text{Gd}(\text{DTPA})^{2-}$ -komplexénél, így az kontrasztanyagként történő felhasználásra nem alkalmas [6].

## 2) Makrociklusos DOTA, NOTA és 18-án- $\text{N}_2\text{O}_4$ származékok komplexei

A makrociklusos tri- és tetraaza valamint diaza-tetraoxa ligandumok nitrogén atomjaihoz negatív töltésű funkciós csoportokat kapcsolva nagyon érdekes kémiai tulajdonságokkal rendelkező és gyakorlati szempontból is fontos ligandumok állíthatók elő. A vizsgálataink szempontjából érdekes ligandumokat a 2. ábrán mutatjuk be.



2. ábra DOTA, NOTA és 18-án- $\text{N}_2\text{O}_4$ -származék ligandumok

A 2. ábrán feltüntetett DOTAGly, NOTAGly és ODDAGly ligandumokat a Tanszékünkön Dr. Lázár István és csoportja állította elő, míg a többi ligandumot a Schering A. G. (Berlin), a Guerbet (Párizs) valamint Dr. Tóth Éva (Lausanne-i Műszaki Egyetem) bocsátotta rendelkezésünkre.

#### **a) A DOTA és származékai komplexei**

A  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok a DOTA ligandummal rendkívül stabilis és nagyon inert komplexeket képeznek, melyeket diagnosztikai ( $\text{Gd}(\text{DOTA})$  mint MRI és CT kontrasztanyag) és terápiás célokra ( $^{90}\text{Y}(\text{DOTA})$ ,  $^{166}\text{Ho}(\text{DOTA})$  a rákterápiában) is használnak. A  $\text{Ln}(\text{DOTA})$ -komplexek aránylag lassan képződnek, ami különösen a hordozómentes radioaktív izotópok rendkívül híg oldatokban (pl.  $^{90}\text{Y}$ ) történő komplexképzésekor okoz gondot. A komplexek képződése kinetikáját korábban részletesen tanulmányoztuk. Megállapítottuk, hogy a képződés egy  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DOTA})^+$  összetételű köztitermék keletkezésével megy végbe, melyben feltevésünk szerint a protoncsere aránylag gyors (a két gyűrűben levő N protonálódik) a környező víz protonjaival, így a kétszer protonált részecske egyensúlyban van az egyszer protonált  $\text{Ln}(\text{HDOTA})$  részecskével. A képződés sebességmeghatározó lépése a  $\text{Ln}(\text{HDOTA})$  deprotonálódása.

$^1\text{H}$  NMR vizsgálataink szerint a DOTA gyűrű és acetát-metilén protonjainak a jele aránylag széles a vizsgált 2–13 pH tartományban, ami a molekula belső mozgásával lehet kapcsolatban, de közben a vízjel is szélesedik, különösen a 4–5 pH tartományban, ami a ligandum és az oldószer víz közötti aránylag lassú protoncserére utal.  $\text{K}^+$ -ionok jelenlétében  $\text{K}(\text{H}_2\text{DOTA})^-$  részecskék lehetnek túlsúlyban (a  $\text{K}^+$ -ion csak az acetátcsoportokhoz kapcsolódik, mint a  $\text{Ln}^{3+}$  az  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DOTA})^+$  köztitermékben és a protoncsere bár lassú az NMR időskálán, mégis sok nagyságrenddel gyorsabb, mint a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ -komplexek képződése, így valószínűsíti a  $\text{Ln}(\text{H}_2\text{DOTA})^+$  és  $\text{Ln}(\text{HDOTA})$  köztitermékek közötti egyensúlyt [7].

A lantanoidakomplexek mellett a  $\text{Bi}(\text{DOTA})^-$  és  $\text{Bi}(\text{DO}_3\text{A-Bu})$ -komplexet is vizsgálják mint potenciális röntgen kontrasztanyagot. Így érdekessé vált a komplexek oldategyensúlyi és szerkezeti vizsgálata. A  $\text{Bi}(\text{DOTA})^-$  és  $\text{Bi}(\text{DO}_3\text{A-Bu})$ -komplexek stabilitási állandóit a ligandumok és bromidionok közötti, a  $\text{Bi}^{3+}$ -ionokért folyó kompetícióval határoztuk meg spektrofotometriás módszerrel a  $\text{Bi}^{3+}\text{-Br}^-$ -komplexek fényelnyelését vizsgálva. A komplexek stabilitási állandói rendkívül nagyok (a  $\log K$  értékek 30,3 és 26,8). A  $\text{Bi}(\text{DO}_3\text{A-Bu})$  három alkoholos OH-csoportjának egyike a pH 5–9 tartományban disszociál ( $\text{p}K = 7,53$ ), így fiziológiás pH-n a komplex csak kb. 50%-ban töltés nélküli.  $^1\text{H}$ -NMR vizsgálattal kimutattuk, hogy a „butrol”-csoport középső szénatomjához kapcsolódó OH-csoport disszociál és koordinálódik. A  $\text{Bi}(\text{DOTA})^-$   $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR spektrumait a hőmérséklet függvényében vizsgálva megállapítottuk a komplex fluxionalitását ami a gyűrű konformáció és a koordinált acetátok helicitásának egyidejű változását jelenti. A lehetséges két izomer közül a  $\text{Bi}(\text{DOTA})^-$  a  $\text{La}(\text{DOTA})^-$  szerkezetével egyezik, azzal a különbséggel, hogy koordinált vizet nem tartalmaz [8].

#### **b) Az N-acetilglicinát funkciós csoportot tartalmazó ligandumok komplexei**

A DOTAGly, NOTAGly és ODDAGly ligandumokban a gyűrű N-atomokhoz koordinált N-acetilglicin-csoport a gyűrű nitrogénatommal diglicinnek tekinthető, vagy ha a gyűrű merev, akkor a gyengén koordinálódó acetilglicinát-csoportnak.

A ligandumokkal képződő komplexek stabilitását a  $\text{Mg}^{2+}$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Sr}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ - és több  $\text{Ln}^{3+}$ -ion esetében vizsgáltuk pH-potenciometriás és spektrofotometriás ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Nd}^{3+}$ ) módszerrel. A stabilitási állandók értékei lényegesen kisebbek mint a megfelelő acetátszármazékoké és a lantanoida sorozat elején növekednek, majd gyakorlatilag állandók, vagy mint az ODDAGly esetében, csökkennek. A DOTAGly esetében az amid protonok disszociációja a  $\text{Cu}^{2+}$ -vel történő komplexképzés esetében sem következik be, feltehetően a

makrociklus merev szerkezete miatt. Ugyanakkor a  $\text{Cu}(\text{NOTAGly})^-$  esetében pH 6–8 között bekövetkezik egy amid proton disszociációja, amit spektrofotometriás módszerrel igazoltunk. A savas közegben előállított monoprotonált  $\text{Cu}(\text{HNOTAGly})$ -komplex szerkezete a röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint torzult oktaéderes.

A  $\text{Ln}(\text{DOTAGly})$ -komplexek képződése a DOTA-komplexekénél lassabban történik, de hasonlóan a  $\text{OH}^-$ -ionok katalizálják a keletkező kétszer protonált köztitermék átalakulását (a  $\text{Ce}(\text{H}_2\text{DOTAGly})^+$  gyors képződését, majd lassú deprotonálódását spektrofotometriás módszerrel kimutattuk). A  $\text{Gd}(\text{DOTAGly})$  disszociációja savas közegben (0,1–1,0 M HCl) protonkatalizált úton folyik le, és a disszociáció valmivel lassúbb a  $\text{Gd}(\text{DOTA})^-$ -komplexénél [9].

Nagyon érdekes a  $\text{Cu}^{2+}$ –ODDAGly rendszerben lefolyó komplexképződés. pH < 5 esetén  $\text{CuHL}$  és  $\text{CuL}$  összetételű részecskék képződnek, majd megkezdődik egy amid NH deprotonálódása  $\text{CuLH}_{-1}$  képződésével, de kb. pH > 7 esetében spontán kétmagvú  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$  összetételű komplex keletkezik. A kétmagvú komplex képződését a ligandum fele mennyiségének szabad ligandum formájában történő –  $^1\text{H}$ -NMR módszerrel igazolt – megjelenésével bizonyítottuk. A  $\text{Cu}_2\text{LH}_3$ -komplex 2:1 fém – ligandum aránynál is előállítható, és pH > 7 esetében csak ez a részecske van oldatban. A kétmagvú komplex ESR „csendes” és  $^1\text{H}$ -NMR spektruma is felvehető a –2 – 45 ppm tartományban. A kétmagvú komplexben mindkét amid NH disszociál és az amid oxigének helyett az amid N<sup>-</sup>-ek koordinálódnak. A két  $\text{Cu}^{2+}$ -ion feltehetően egy  $\text{OH}^-$  hídon kapcsolódik és a közöttük fellépő kölcsönhatás vezet a mágneses momentumuk csökkenéséhez. Sajnos, a kétmagvú komplexet nem sikerült egykristály formában előállítani.

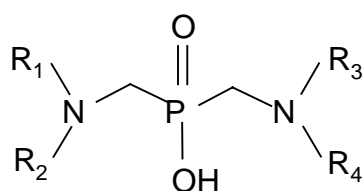
### c) A $\text{Ln}(\text{DOTAM})$ -komplexek képződési kinetikája

A DOTAM ligandum  $\text{CH}_2\text{--CONH}_2$  funkciós csoportokat tartalmaz, így töltéssel nem rendelkezik. Ugyanakkor két gyűrű nitrogénje protonálódik ( $\text{p}K_1 = 6,05$  és  $\text{p}K_2 = 9,1$ ), így a pH 4–6 tartományban  $\text{LH}_2^{2+}$  és  $\text{LH}^+$  formában van jelen. A  $\text{Ln}(\text{DOTAM})$ -komplexek képződése nagyon lassú és sem a kinetikai adatok, sem a spektrofotometriás vizsgálatok nem mutatják köztitermék képződését. Így a komplexképződés kinetikája határozottan eltér a  $\text{Ln}(\text{DOTA})^-$ -komplexekétől. A kinetikai adatok alapján sikerült igazolni, hogy a  $\text{Ln}(\text{DOTAM})^{3+}$ -komplexek képződése a  $\text{Ln}^{3+}$ -ionok és a deprotonált DOTAM részecskék közvetlen találkozásával megy végbe. A másodrendű sebességi állandók mintegy négy nagyságrenddel kisebbek a flexibilis ligandumokkal történő reakciókban mért állandóktól. Ugyanakkor a sebességi állandók maximum görbe szerint változnak a lantanoida sorban, ami hasonló az egyfunkciós vagy flexibilis többfunkciós ligandumok reakcióiban tapasztaltakhoz. Így a  $\text{Ln}^{3+}$ -aq-ionok vízcseréje sebessége nem a sebességmeghatározó folyamat, de egy további lépésben befolyásolja a komplexek képződése sebességét.

### 3) Láncközi foszfinátcsoportot tartalmazó aminopolikarboxilát-komplexek

A nyíltláncú és makrociklusos poliaminok nitrogénatomjaihoz kapcsolható acetát- vagy foszfonátcsoportok csak terminális helyzetűek lehetnek, míg a foszfinátcsoport láncközi helyzetet is elfoglalhat. Részben az új típusú ligandumok előállítása, részben biológiai érdekességük (enzim inhibitorok) miatt az utóbbi tíz évben többen foglalkoznak a foszfinátok sajátosságainak vizsgálatával.

Mintegy tíz éve állítottuk elő a 3. ábrán bemutatott  $\text{L}^4$  ligandumot, melynek komplexképző sajátosságai az EDTA-éra hasonlítanak. A foszfinát funkciós csoport sajátosságainak részletesebb megismerése céljából előállítottuk az  $\text{L}^4$  fragmenseit és vizsgáltuk a  $\text{Mg}^{2+}$ -,  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Pb}^{2+}$  és lantanoidakomplexeiket.



$R_1$	$R_2$	$R_3$	$R_4$	Ligandum
H	H	H	H	$HL^0$
H	$CH_2COOH$	H	$CH_2COOH$	$H_3L^1$
H	H	$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$H_3L^2$
H	$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$H_4L^3$
$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$CH_2COOH$	$H_5L^4$

### 3. ábra A vizsgált foszfináttartalmú ligandumok

A ligandumok első két protonálódási állandói kisebbek mint az analóg aminopolikarbonsavaké a foszfinátcsoport elektronvonzó hatása miatt. A ligandum nitrogének protonálódása az NMR vizsgálatok szerint a primer, szekunder, tercier nitrogén sorrendben történik. Az  $L^0$ ,  $L^2$  és  $L^3$  ligandum  $ML$ ,  $MLH$ ,  $ML_2$  és  $ML_2H$  típusú komplexeket képez. Az  $L^1$  ligandum csak  $ML$  összetételű komplexet képez, ami a határozott ekvatoriális koordinációját jelzi. A heptadentát  $L^4$  stabilis  $ML$ , valamint  $MLH$  és  $MLH_2$  mellett a többi ligandumtól eltérően kétféleképpen  $M_2L$  komplexeket is képez. Az átmenetifém- és  $Mg^{2+}$ -,  $Ca^{2+}$ -komplexek stabilitási állandói kisebbek mint a hasonló aminopolikarboxilátoké. Érdekes kivétel a  $CuL^1$ , amely nagy stabilitású és a  $\log K_{CuL}$  közelítőleg egyezik a  $CuL^4$   $\log K_{CuL}$  értékével (erős ekvatoriális koordináció). A stabilitási állandók és a  $Zn^{2+}$ -komplexekkel végzett  $^1H$  NMR vizsgálatok alapján az átmenetifém- és  $Ca^{2+}$ -,  $Mg^{2+}$ -komplexekben a foszfinátcsoport nem koordinálódik. A szilárd  $K[CuL^1] \cdot H_2O$ -komplexben a ligandum a röntgendiffrakciós vizsgálatok szerint ekvatoriálisan koordinálódik, 2 N- és 2  $COO^-$ -csoporttal, de nagyobb távolságra egy szomszédos nemkötő karboxilát O és foszfinát O axiálisan koordinálódik.

A lantanoidakomplexek stabilitási állandói nőnek a karboxilátcsoportok számával és az  $L^0$  nem képez komplexet a lantanoidákkal. A stabilitási állandók nagyobbak mint a hasonló aminopolikarboxilátoké, ami jelzi, hogy a foszfinátcsoport koordinálódik a  $Ln^{3+}$ -ionokhoz. Feltűnő a kétféleképpen nagy stabilitása, bár ezek képződését korábbi szerzők nem észlelték.

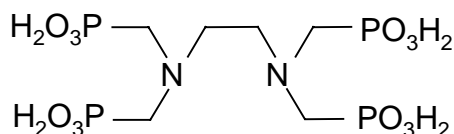
Az  $L^4$  ligandumhoz hasonló, de a  $PO(OH)$ -csoport helyett  $CHOH$ -csoportot tartalmazó 2-hidroxil-1,3-diamino-propán- $N,N,N',N'$ -tetraecetsav ( $H_4HDPTA$ ) ligandum komplexképző sajátosságait, szerkezetét részletesen tanulmányoztuk.

Vizes oldatban a  $HDPTA$  ligandum a  $Ln^{3+}$ -ionokkal  $LnL^-$ ,  $LnLH$  és  $LnLH_2^+$  összetételű komplexeket képez, de a pH-potenciometriás adatok értelmezéséhez feltételezni kell az alkoholos OH disszociációját. A disszociációt jellemző  $pK$  értéke a rendszám növekedésével csökken,  $La^{3+}$ -komplex esetében 5,71, míg a  $Lu^{3+}$  esetén 2,09, ami azt mutatja,

hogy a koordinált ligandum alkoholos OH-csoportja középérős savként viselkedik. Az alkoholos OH disszociációjával párhuzamosan a komplex vizes oldatban dimerizálódik, amit a  $\text{Gd}^{3+}$ -komplex esetén proton relaxációs vizsgálatokkal, míg több komplexre ESI-MS mérésekkel igazoltunk. A szilárd Nd-komplex röntgendiffrakciós vizsgálata szerint a komplex dimer, egy-egy  $\text{Nd}^{3+}$ -ionhoz a két ligandum egy-egy iminodiacetát-csoportja, mindkét – híd helyzetű – alkoholos  $\text{O}^-$  és egy-egy vízmolekula koordinálódik. A  $^1\text{H}$ - és  $^{13}\text{C}$ -NMR-es vizsgálatok eredményei teljesen összhangban vannak a szilárd állapotú komplexre kapott eredményekkel [11].

#### 4) A $\text{Sm}(\text{EDTMP})$ egyensúlyi és kinetikai sajátosságai

Az etiléndiamin- $N,N,N',N'$ -tetrakis(z(metilénfoszfonsav)) ( $\text{H}_8\text{EDTMP}$ ) a  $\text{H}_4\text{EDTA}$  foszfonsav analógjának tekinthető (4. ábra)



4. ábra A  $\text{H}_8\text{EDTMP}$  szerkezete

Az EDTMP ligandumot jelenleg már használják a gyógyászatban a radioaktív  $^{153}\text{Sm}$  izotóp szervezetbe történő bevitelére. Ez a ligandum segíti az izotópnak a rákos csontszövetekbe kerülését, ahol az fájdalomcsillapító hatást fejt ki. A komplex csontszövetekbe kerülésének módja, a fájdalomcsillapítás mechanizmusa még nem ismert. A részletek tisztázásához mindenképpen szükséges a  $\text{Sm}^{3+}$ -EDTMP-komplexek oldatbeli viselkedésének pontos megismerése. Ebből a célból megvizsgáltuk a  $\text{Sm}^{3+}$  – EDTMP rendszerben képződő részecskék összetételét, meghatároztuk azok stabilitási állandóit és tanulmányoztuk a komplexek kinetikai stabilitását is. Az egyensúlyi rendszerek vizsgálatát nagyban nehezíti az a tény, hogy mérsékelt savas közegben – ahol a komplex képződése megindul – széles pH tartományban csapadék képződik. A csapadékot valószínűleg protonált komplexek eredményezik. Bizonyára ez a kísérleti probléma okozhatja, hogy a komplex stabilitási állandójára vonatkozó irodalmi adatok meglehetősen nagy különbségeket mutatnak.

Sikerült találnunk egy módszert, amellyel elkerülhettük a csapadék zavaró hatását. A pH 9,8–10,2 tartományban már nincs jelen csapadék és spektrofotometriás módszerrel jól követhető a  $\text{CuEDTMP} - \text{Sm}^{3+}$  rendszerben végbemenő kompetíciós reakció. Az egyensúly elérése után A réz(II)komplex stabilitási állandójának ismeretében kiszámíthattuk a  $\text{SmEDTMP}^{5-}$ -komplex stabilitási állandóját ( $\log K_{\text{SmL}} = 20,71$ ;  $25^\circ\text{C}$ ,  $I = 0,15 \text{ M NaCl}$ ). A viszonylag nagy pH-nál végzett kísérletek során a  $\text{Sm}^{3+}$ - és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok esetében egyaránt hidrolízis következett volna be, ha nem alkalmazunk olyan komplexképzőt, amelyik mindkét fémiont oldatban képes tartani. A képződő komplexek stabilitásának ugyanakkor olyannak kell lennie, hogy az a vizsgált egyensúlyt ne zavarják. Ilyen, alkalmas komplexképzőnek bizonyult a citrátion. A számításokhoz szükségünk volt a  $\text{Sm}^{3+}$ - és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok citrátkomplexeinek a kísérleti körülményeinkre vonatkozó stabilitási állandóira, amelyeket külön mérésekkel szintén meghatároztunk.

A  $\text{Sm}(\text{EDTMP})^{5-}$ -komplex kinetikai stabilitását sokkal kisebbnek találtuk, mint az analóg EDTA-komplexeit. A  $\text{Sm}(\text{EDTMP})^{5-}$ - és a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionok közötti cserereakciót vizsgáltuk spektrofotometriás módszerrel, stopped-flow technikával szintén citrátion felesleg mellett, a  $\text{Cu}^{2+}$ -ionokat is feleslegben alkalmazva. A protonkatalizált pszeudo-elsőrendű disszociáció sebességi állandóit a pH 7–9 tartományban határoztuk meg a pH függvényében. Fiziológias pH-n a disszociáció felezési ideje  $t_{1/2} = 5,1 \text{ s}$ . A komplex ilyen kis felezési



idejének ismeretében azt valószínűsíthetjük, hogy a  $^{153}\text{Sm}$  izotóp a komplex disszociációját követően adszorbeálódhat a beteg csontfelületeken.

#### A beszámolóban hivatkozott közlemények

1. Jászberényi, Z.; Brücher, E.; Jekő, J.; Hideg, K.; Kálai, T.; Király, R. (2003):  
Synthesis, equilibrium and kinetic properties of  $\text{Gd}^{3+}$  complexes of three DTPA-bis(amide) derivatives containing stable nitroxide free radical substituents  
Eur. J. Inorg. Chem., 19, 3601–3608.
2. Jászberényi, Z.; Bányai, I.; Brücher, E.; Király, R.; Hideg, K.; Kálai, T. (2006):  
Equilibrium and NMR studies on  $\text{Gd}^{\text{III}}$ ,  $\text{Y}^{\text{III}}$ ,  $\text{Cu}^{\text{II}}$  and  $\text{Zn}^{\text{II}}$  complexes of various DTPA- $N,N'$ -bis(amide) ligands. Kinetic stabilities of the gadolinium(III) complexes  
Dalton Trans., 1082–1091.
3. Jászberényi, Z.; Tóth, É.; Kálai, T.; Király, R.; Burai, L.; Brücher, E.; Merbach, A. E.; Hideg, K. (2005):  
Synthesis and complexation properties of DTPA- $N,N'$ -bis[bis(n-butyl)]- $N'$ -methyl-tris(amide). Kinetic stability and water exchange of its  $\text{Gd}^{3+}$  complex  
Dalton Trans., 694–701.
4. Sarka, L.; Burai, L.; Király, R.; Zékány, L.; Brücher, E. (2002):  
Studies on the kinetic stabilities of the  $\text{Gd}^{3+}$  complexes formed with the  $N$ -mono(methylamide),  $N'$ -mono(methylamide) and  $N,N'$ -bis(methylamide) derivatives of DTPA  
J. Inorg. Biochem., 91, 320–326.
5. Brücher, E. (2002):  
Kinetic stabilities of gadolinium (III) chelates used as MRI contrast agents  
Topics in Current Chemistry, 221, 103–122
6. Kotek, J.; Kálmán, F. K.; Hermann, P.; Brücher, E.; Binnemans, K. and Lukeš, I. (2006):  
Study of thermodynamic and kinetic stability of transition metal and lanthanide complexes of DTPA analogues with a phosphorus acid pendant arm  
Eur. J. Inorg. Chem., 1976–1986
7. Csajbók, É.; Bányai, I.; Brücher, E. (2004):  
Dynamyc NMR properties of DOTA ligand: variable pH and temperature  $^1\text{H}$  NMR study on  $[\text{K}(\text{H}_x\text{DOTA})]^{(3-x)-}$  species  
Dalton Trans., 2152–2156.
8. Csajbók, É.; Baranyai, Zs.; Bányai, I.; Király, R.; Müller-Fahrnow, A.; Platzek, J.; Radüchel, B.; Schäfer, M. and Brücher, E. (2003):  
Equilibrium,  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - NMR spectroscopy and X-ray diffraction studies on the complexes  $\text{Bi}(\text{DOTA})$  and  $\text{Bi}(\text{DO3A-Bu})$   
Inorg. Chem., 42, 2342–2349.
9. Baranyai, Z.; Brücher, E.; Iványi, T.; Király, R.; Lázár, I.; Zékány, L. (2005):  
Complexation properties of  $N, N', N'' N'''$ -[1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetrayltetrakis(1-oxoethane-2,1-diyl)]tetrakis(glycine) ( $\text{H}_4\text{dotagl}$ ). Equilibrium, kinetic, and relaxation behavior of the lanthanide(III) complexes  
Helv. Chim. Acta, 88, 604–617.

10. Nagy, N. V.; Szabó-Plánka, T.; Tircsó, G.; Király, R.; Árkosi, Z.; Rockenbauer, A.; Brücher, E. (2004): Copper(II) complexes of some N-substituted bis(aminomethyl)phosphinate ligands. An integrated EPR study of microspeciation and coordination modes by the two-dimensional simulation method J. Inorg. Biochem., 98, 1655–1666.
11. Tircsó, Gy.; Bényei, A.; Brücher, E.; Kiss, A.; Király, R. (2006): Equilibria and structure of the lanthanide(III)-2-hydroxy-1,3-diaminopropane-*N,N,N',N'*-tetraacetate complexes. Formation of alkoxo-bridged dimers in solid state and solution Inorg. Chem., 45, 4951–4962.

#### **Beküldés előtti, kész közlemények**

1. Tircsó, Gy.; Bényei, A.; Király, R.; Lázár, I.; Pál, R.; Brücher, E.: Synthesis, equilibrium, X-ray diffraction and NMR studies on the complexes of bis(aminomethyl)-phosphinic acid and its derivatives formed with some divalent metal ions Dalton Trans.,
2. Tircsó, Gy.; Bányai, I.; Brücher, E.; Király, R.; Lázár, I.; Pál, R.: Equilibrium and NMR studies on the complexes of lanthanides formed with the di-, tri- and tetraacetate derivatives of bis(aminomethyl)-phosphinic acid Dalton Trans.,
3. Baranyai, Z.; Bányai, I.; Brücher, E.; Király, R.: Kinetics of the formation reaction of the lanthanide(III)-DOTAM complexes Inorg. Chem.,